

法政大学学術機関リポジトリ  
HOSEI UNIVERSITY REPOSITORY

# スギ黒点病菌を用いたヒノキ花粉飛散抑制資材開発に関する研究

著者	山中 智博
出版者	法政大学大学院理工学研究科
雑誌名	法政大学大学院紀要．理工学・工学研究科編
巻	59
ページ	1-4
発行年	2018-03-31
URL	<a href="http://doi.org/10.15002/00021639">http://doi.org/10.15002/00021639</a>

# スギ黒点病菌を用いたヒノキ花粉飛散 抑制資材開発に関する研究

## STUDIES ON DEVELOPMENT OF TREATMENT FOR JAPANESE CYPRESS POLLEN USING *SYDOWIA JAPONICA*

山中智博

Tomohiro YAMANAKA

指導教員 石川成寿

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻植物医科学領域修士課程

*Sydowia japonica* is a parasite specifically to the male strobili of Japanese cedar and a candidate for the control of Japanese cedar pollen dispersal, which is a cause of pollinosis. Some previous researches showed that this fungus can also infect the male strobili of Japanese cypress that is the second important causes of pollinosis in Japan. To evaluate *S. japonica* for biological material against the Japanese cypress pollen dispersal, it is important to know characteristics and behavior of *S. japonica* on Japanese cypress. I therefore conducted to: 1) seek *S. japonica* on the male strobili of Japanese cypress in nature, 2) know the infection system of *S. japonica* to Japanese cypress pollen, 3) determine infection rate of each *S. japonica* isolate, 4) understand impact of our inoculum for several special forest products. From my results, I concluded that it is necessary to use noneffective additives for forest products at the proper inoculation period considering growth of *S. japonica* and maturity of the Japanese cypress pollen in order to utilize *S. japonica* as a biological material.

**Key Words :** Biological control, Fungal biology, Pollinosis

### 1. 緒言

季節性アレルギー性鼻炎（以下、花粉症）は我が国における深刻な社会問題の 1 つである。この本症の軽減を目指すため、近年、花粉症の根源であるスギ雄花に特異的に寄生し、花粉飛散を抑える効果を持つスギ黒点病菌 (*Sydowia japonica* (Kasai) Hirooka & Masuya) を用いた花粉飛散抑制技術の開発が行なわれている（窪野ら 2010, 廣岡ら 2013）。一方、花粉症はスギ花粉以外の花粉が原因となることも多く、スギ花粉症患者の多くがヒノキ花粉症も発症する。そのため、スギ花粉だけでなくヒノキ花粉の飛散も同時に抑制できることが好ましい。これまでの先行研究により、本菌はスギだけでなくヒノキ雄花へも感染し、花粉飛散抑制効果があることが確認された（窪野ら 2011, 廣岡ら 2013）。しかし、自然界においてヒノキ雄花に寄生する *S. japonica* は未発見であり、ヒノキへの感染機構についても明らかになっていない。そこで、本研究では *S. japonica* を用いたヒノキ花粉飛散抑制資材開発の基礎資料を得ることを目的に①自然界でのヒノキ雄花に寄生する *S. japonica* の探索、② *S. japonica* のヒノキ雄花への感染機構の解明、③菌株間におけるヒノキ雄花への感染率および④特用林産物への影響評価を行

った。

### 2. 方法

#### (1) ヒノキ雄花に寄生する *S. japonica* の探索

2015 年～2017 年にかけて、8 か所の採集地からヒノキの枯死雄花を採集し、組織または単菌糸分離により菌株を得た。それぞれの分離菌株は PDA 培地上での菌叢性状および分生子の形態、また菌類の DNA バコード領域である ITS を用いた種の同定を行った。

#### (2) *Sydowia japonica* のヒノキ雄花への感染機構の解明

2016 年および 2017 年の 1 月～4 月に、茨城県つくば市森林総合研究所内の複数のヒノキ樹の雄花に毎月 *S. japonica* の分生子懸濁液を滴下接種し、感染率を検討した。接種区には大豆油と大豆レシチンを混ぜた乳化剤に *S. japonica* の分生子を  $1.0 \times 10^7$  個/ml に調整した分生子懸濁液を、対照区には乳化剤のみを散布した。回収した雄花は走査型電子顕微鏡を用いて雄花表面および内部の感染を観察した。また、異なる温度における分生子発芽試験およびヒノキ花粉の成熟調査を行い、それら結果を基に感染機構の影響を考察した。

#### (3) 菌株間におけるヒノキ雄花への感染率の評価

2016 年および 2017 年の 1 月～4 月, 森林総合研究所内の複数のヒノキ樹の雄花に, 全国各地で採集した合計 12 株の *S. japonica* を用いた接種試験を行った(表 1)．接種した雄花は「枯死雄花」, 「飛散直前雄花」, 「非感染雄花」の 3 段階で評価し(図 1), 感染率を「飛散直前雄花」から *S. japonica* が再分離されるとき, {枯死雄花数/(接種時の全雄花数－総採取雄花数)×100} として算出した．

表 1 ヒノキ雄花に対する接種に用いた  
*Sydowia japonica* 菌株

菌株名	採集地	菌株名	採集地
福島株(DC3)	福島県西会津町	秋田株(DC7)	秋田県田沢
岩手株(DC8)	岩手県豊沢	静岡株(DC9)	静岡県天滝
青森株(DC17)	青森県白神	石川株(DC21)	石川県志賀町
滋賀株(S3)	滋賀県大津市	富山株(T2)	富山県
島根株(I12)	島根県飯南町	熊本株(IT2)	熊本県五木村
愛媛株(IY1)	愛媛県伊予三島	和歌山株(14t47)	和歌山県太地町



図 1 評価試験に供したヒノキ雄花: ①枯死雄花 ②飛散直前雄花 ③非感染雄花

#### (4) 特用林産物への影響評価

特用林産物であるワサビ, アシタバ, セリ, マイタケおよびシイタケに *S. japonica* を用いた接種試験を行った．接種源は滅菌水・分生子懸濁液区と乳化剤・分生子懸濁液区を設け, それぞれ噴霧接種した．また乳化剤による影響も確認するために, コントロール区として滅菌水区と乳化剤区を設けた．接種後は 1 週間～2 か月間, 経過観察を行った．

### 3. 結果

#### (1) ヒノキ雄花に寄生する *S. japonica* の探索

2015 年から 3 年間の探索で 14 属の菌類が分離され, 特に *Pestalotiopsis* 属菌 (42%), *Alternaria* 属菌 (10%) が高頻度で分離されたが, *S. japonica* は観察されなかった(図 2)．

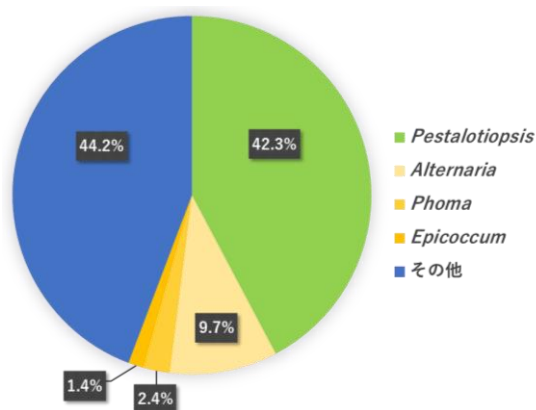


図 2 ヒノキ枯死雄花から分離された菌類

#### (2) *Sydowia japonica* のヒノキ雄花への感染機構の解明

##### a) 花粉の成熟度

茨城県つくば市のヒノキ雄花は, 3 月上旬までは花粉母細胞で, 3 月中旬から下旬に四分子, 小孢子へと分化し 4 月上旬から飛散が始まった(図 3)．

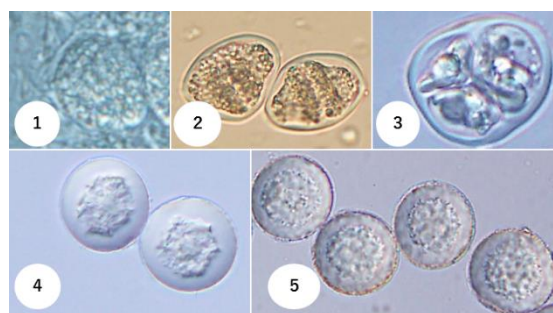


図 3 各時期におけるヒノキ花粉の状態: ①花粉母細胞 (2 月) ②花粉母細胞 (3 月上旬) ③花粉四分子 (3 月中旬) ④小孢子 (4 月上旬) ⑤成熟した花粉 (4 月下旬)

##### b) 花粉の成熟度における感染機構

*S. japonica* は花粉母細胞期で鱗片上にわずかに菌糸を伸長したが, 花粉嚢や花粉への貫入は見られなかった．その後, 四分子期では鱗片上だけでなく鱗片の隙間へ菌糸を伸ばした．そして, 小孢子期に内部の軸に菌糸が感染して雄花が開くのを抑制すると共に, 花粉嚢および花粉に菌糸が絡みつき貫入することで飛散を抑制した(図 4)．

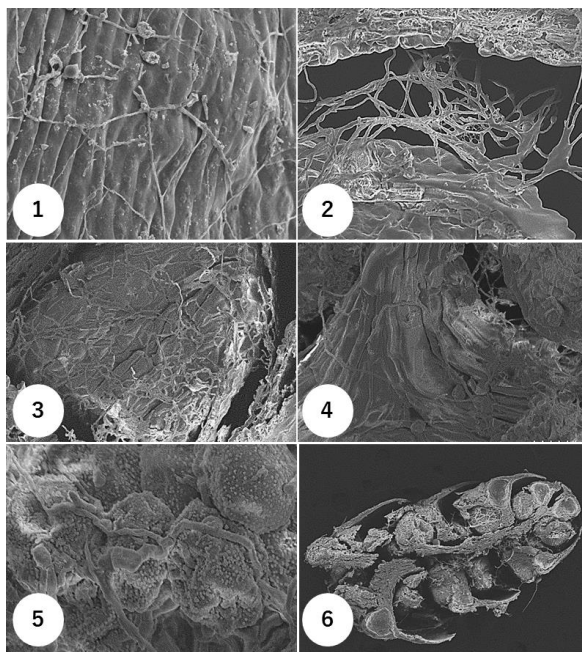


図4 *S. japonica* のヒノキ雄花上での動向:①鱗片上の菌糸 ②鱗片の隙間に侵入する菌糸 ③花粉上の菌糸 ④軸上の菌糸 ⑤花粉に感染した菌糸 ⑥飛散しなかった一部の花粉

### (3) 菌株間におけるヒノキ雄花への感染率の評価

1月接種区では2016年、2017年ともに感染率は5%未満と低かった。2月接種区になると多くの菌株が10%以上の感染率であり、3月接種区では秋田菌株(DC7)、岩手菌株(DC8)および静岡菌株(DC9)が約30%の感染率を示した。しかし、4月接種区になると、多くの菌株の感染率は10%未満であった。また2016年、2017年とも青森株(DC17)は安定した感染率を示した。なお、2017年度の2月接種区のコントロールにおいて感染率が生じているが、接種枝と近い位置だったため、そこから感染が生じたと考えられた(図5、図6)。

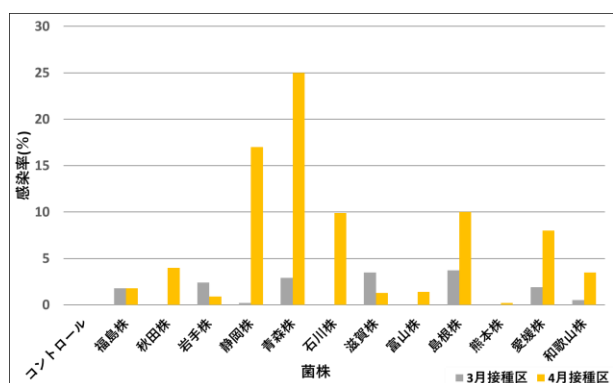


図5 2016年度における各菌株の感染率

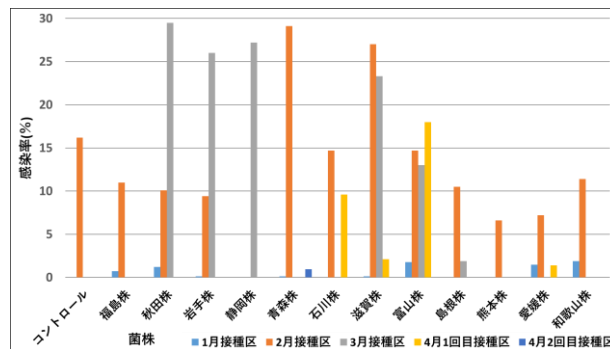


図6 2017年度における各菌株の感染率

### (4) 特用林産物への影響評価

接種した植物のうち、ワサビ、アシタバおよびシイタケに乳化剤区、乳化剤・分生子懸濁液区で変色や株の衰弱がみられた(図7)。



図7 各特用林産作物に対する *S. japonica* 分生子の接種試験の状況:①ワサビ乳化剤区 ②アシタバ乳化剤区 ③シイタケ乳化剤区 ④ワサビ滅菌水区 ⑤アシタバ滅菌水区 ⑥シイタケ滅菌水区

## 4. 考察

本研究において、自然界におけるヒノキ雄花から *S. japonica* は発見されなかったが、雄花には多様な菌類が生育していることが明らかとなった。今後、これら分離された菌も花粉飛散抑制に関与するか検討したい。

2016年～2017年、茨城県つくば市における *S. japonica* の感染機構を検討した結果、本菌の花粉嚢や花粉への感染には、気温や花粉の成熟度が関与していると考えられる。また、過去に行われたスギの感染機構(廣岡ら 2013)と今回のヒノキの結果を比較すると、ヒノキ花粉の分化時期が菌の生育に適していないことや、花粉への感染が始まる小孢子期が、スギ花粉と比べて極端に短いため、ヒノキ花粉への感染率が低かったと考えられる(図8)。

全国各地で分離された多数の分離菌を用いて接種試験を行った結果、分離菌株間で差が生じ、その中で安定して高い感染率を示したのは青森菌株(DC17)であった。青森菌株(DC17)は遺伝的に秋田(DC7)や岩手菌株

(DC8) といった東北から分離された菌株と同じグループに含まれる(廣岡ら 2013)。今後は、東北地域の菌株間での感染率についてさらに検討したい。

自然界への影響を評価するため、特用林産物へ接種を行った結果、滅菌水区および滅菌水・分生子懸濁液区では変化がなく、乳化剤区および乳化剤・分生子懸濁液区においてワサビ、アシタバ、シイタケへの変色および衰弱が観察された。乳化剤は、*S. japonica* の雄花への高い感染力を維持する効果を持つ。今後は菌の感染力を維持しつつ、他の植物に対し影響のない乳化剤濃度やそれに代わる添加物の開発を検討したい。

以上より今後、ヒノキ雄花に対して *S. japonica* を生物資材として利用するためには、菌の生育および花粉の成熟度を考慮した接種時期に、植物に影響の少ない添加物と感染率の高い菌株を加えた生物資材を接種に用いる必要がある。



\* 廣岡ら 2013

図 8 スギの花粉成熟ステージとヒノキの比較

**謝辞:** 本研究を行うにあたり、ご指導・ご援助いただいた廣岡裕吏先生をはじめ、森林総合研究所 窪野高徳様・佐橋憲生様・秋庭満輝様・高橋由紀子様・職員の皆様、研究室の皆様、その他本研究を支えていただいた多くの皆様に厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 廣岡裕吏ら: スギ花粉の飛散を抑える *Sydowia japonica* の感染機構. 樹木医学研究 17: 11-12, 2013a
- 2) 廣岡裕吏ら: *Sydowia japonica* によるヒノキ花粉への感染機構. 第 123 回日本森林学会大会講演集 P2-056, 2013b
- 3) Hirooka Y et al. : *Sydowia japonica*, a new name for *Leptosphaerulina japonica* based on morphological and molecular data. Mycological Progress 12: 173-183, 2013a
- 4) Hirooka Y et al. : A novel approach of preventing Japanese cedar pollen dispersal that is the cause of Japanese cedar pollinosis (JCP) using pollen-specific fungal infection. PLoS ONE 8: e62875, 2013b
- 5) 窪野高徳ら: 糸状菌を用いたスギ花粉飛散抑制の試み. 第 118 回日本森林学会大会講演集: P2i23, 2007
- 6) 窪野高徳ら: スギ黒点病菌のヒノキ科樹木に対する病原性. 東北森林科学会大会講演要旨集 14: 33, 2009
- 7) 窪野高徳ら: カビでスギ花粉の飛散を断つ防止剤の開発. 平成 25 年版研究成果選集. P46-47, 2013
- 8) Masuya H et al. : Mass production of *Sydowia japonica*, a candidate of male-strobilus specific biocontrol agent for preventing the pollen dispersal of *Cryptomeria japonica*. Bulletin of FFPRI 12: 165-170, 2013
- 9) 高畑義啓ら: 熊本県におけるスギ黒点病菌によるスギ花粉飛散抑制の可能性. 九州森林研究 68: p135-137, 2015
- 10) 高畑義啓ら: 熊本県におけるスギ黒点病菌によるヒノキ花粉飛散抑制の可能性の検討. 九州森林研究 69: p121-124, 2016
- 11) 山中智博ら: *Sydowia japonica* のヒノキ雄花への感染と花粉の成熟度について. 樹木医学研究 21 (3) : 136-137, 2017